

Tartu Ülikool
Loodus- ja täppisteaduste valdkond
Matemaatika ja statistika instituut

Annika Altoja

Koopiaarvu variatsioonide mõju inimese isiksusele

Matemaatilise statistika eriala

Bakalaureusetöö (9 EAP)

Juhendaja: Uku Vainik

Tartu 2020

Koopiaarvu variatsioonide mõju inimese isiksusele

Bakalaureusetöö

Annika Altoja

Lühikokkuvõte. Koopiaarvu variatsioonid (CNV-d) on genoomis toimunud muutused, kus osa kromosoomi piirkonnast on mitmekordistunud või kopeerimata jäetud. Isiksust saab mõõta Suure Viisiku mudeliga, kus viis põhilist isiksusetunnust on omakorda lahti mõtestatud kuue spetsiifilisema alamtahuga. Käesoleva bakalaureusetöö põhieesmärgiks on uurida, kas ja milline seos on CNV ja isiksuse vahel. Selleks võrreldakse geeniproovidest leitud CNV-de sagedusi suure viisku isiksuse testi tulemustega. Analüüsimiseks kasutatakse Tartu Ülikooli Geenivaramu andmeid ning seoste uurimiseks diskreetsete tunnustega regressioonanalüüsi. Töö käigus ei leitud CNV-de ja isiksusetunnuste vahel seoseid.

CERCS teaduseriala: : P160 Statistika, operatsioonianalüüs, programmeerimine, finants- ja kindlustusmatemaatika

Märksõnad: koopiaarvu variatsioonid, isiksus, suur viisik

Associations between copy number variations and personality

Bachelor's thesis

Annika Altoja

Abstract. Copy number variations (CNV) are genomic changes in which sections of the chromosomes are duplicated or deleted. Personality can be measured with the Big Five model, where the five main personality traits are interpreted by six more specific sub-facets. The aim of the bachelor's thesis is to analyse whether and what associations exist between CNVs and personality traits. For that, the frequencies of CNVs found in the gene samples are compared with the results of a personality test. The data for the thesis is received from the Estonian Genome Center of the University of Tartu and is analyzed with multiple regression model with discrete dependent variables. No associations were found between CNVs and personality traits.

CERCS research specialisation: P160 Statistics, operations research, programming, financial and actuarial mathematics

Keywords: copy number variations, personality, the Big Five

Sisukord

Sissejuhatus	4
1. Metoodika.....	6
1.1 Bonferroni-Holm parandus	6
1.2. Mitme argumendiga regressioonimudel	6
1.2.1. Regressioonikordajate olulisuse kontroll	7
1.2.2. Regressioonanalüüsi mudel diskreetse argumendiga	8
1.3. Teised meetodid	8
2. Andmestik	9
3. Analüüs.....	11
3.1. Kirjeldav analüüs.....	11
3.1.1. Doonorite üldandmed	11
3.1.2. Isiksuse näitajad	12
3.1.3. CNV-de andmed.....	13
3.2. CNV ja hariduse vaheline seos.....	14
3.3. CNV ja isiksuse vaheline seos	16
Kokkuvõte	18
Viited.....	20
Lisad	22
Lisa 1 - Isiksuse testi skooride jaotuse hajuvus neurootilisuse alamtahkudes	22
Lisa 2 - Isiksuse testi skooride jaotuse hajuvus ekstravertsuse alamtahkudes	22
Lisa 3 - Isiksuse testi skooride jaotuse hajuvus avatuse alamtahkudes.....	23
Lisa 4 - Isiksuse testi skooride jaotuse hajuvus sotsiaalsuse alamtahkudes.....	23
Lisa 5 - Isiksuse testi skooride jaotuse hajuvus meelekindluse alamtahkudes.....	24
Lisa 6 - Inimeste jaotus vastavalt inimese kohta leitud üle 250 kb suuruste CNV-de kohta sagedustele	25

Sissejuhatus

Isiksus on kokkuvõte sellest, mida inimene tahab ja teeb, millesse ta usub ja mida tunneb (Ozer and Benet-Martínez, 2006). Iga inimese isiksus on teiste inimestega võrreldes veidi erinev. Samuti on kõigil unikaalne DNA ehk pärilikku informatsiooni säilitav aine, mis inimese olemust mõjutab. Kui DNA-s on toimunud muutused, kus osa DNA piirkonnast on mitmekordistunud või kopeerimata jäetud, siis nimetatakse neid muutuseid koopiaarvu variatsioonideks ehk CNV-deks. Varasemad uuringud ei ole veel tõestust leidnud, et CNV-d võiksid mõjutada inimese isiksust. Selle seose leidmine annaks lisateadmisi sellest, kuidas inimese isiksus kujuneb.

Suur Viisik tähendab psühholoogias viie-faktorilist mudelit, mis kirjeldab inimese isiksust. Need viis faktorit on avatus kogemustele, meelekindlus, ekstraversus, koostöövalmidus ja neurootilisus ehk emotsionaalne ebastabiilsus. Iga faktori saab omakorda lahti mõtestada kuue spetsiifilisema iseloomuomaduse tahuga (John et al., 2008). Kaks inimest, kellel on faktori tasemel kõrge neurootilisus, võivad aga olla neurootilisuse faktori tahkude lõikes väga erinevad. Seega on sageli faktorite tahkude uurimine palju informatiivsem, kuna piiritleb inimese isiksust täpsemalt (Vainik et al., 2018). Testide ja küsimustike põhjal on võimalik inimesel määrata iga faktori ja tema tahu kohta skoor, mis näitab tema paiknemist vastava isiksuseomaduse skaalal.

Varasemalt on tehtud enim üksiknukleotiitsete polümorfismide uuringuid või ülegenoomseid uuringuid, et leida DNA ja isiksuse vahelist seost. Üksiknukleotiidsed polümorfismid (SNP-d) toimuvad siis, kui genoomis üks nukleotiid kustub, lisandub juurde või muutub. Sellised muutused on kõige sagedasemad geneetilised varieeruvused genoomis ja teevad iga inimese DNA unikaalseks. SNP-de efektid on üldiselt väga väikesed ja ei ole inimesele kahjulikud. On näidatud, et mõned SNP-d võivad mõjutada inimese isiksust, näiteks neurootilisust (23andMe Research Team et al., 2018). Ülegenoomsete uuringute puhul vaadeldakse kogu genoomi SNP-sid, mitte ei keskenduta kindlale piirkonnale. Selle uurimismeetodiga on tuvastatud geneetilisi variante, mis mõjutavad inimese neurootilisust ja depressiooni (Moor et al., 2015). CNV-poolset lähenemist on siiani kasutatud aga võrdlemisi vähe ja selle seos inimese isiksusega ei ole veel kindel.

Genoom on kromosoomikomplektis sisalduv geneetiline materjal. Inimesel moodustab genoomi 23 kromosoomipaari. Koopiaarvu variatsioonid (CNV-d) on genoomis toimunud muutused, kus osa kromosoomi piirkonnast on mitmekordistunud või kopeerimata jäetud (Kirov et al., 2015). CNV-d võivad olla väga erineva esinemissageduse ja suurusega, näiteks 1000 nukleotiidi või 1 000 000 nukleotiidi. Kuna mitmed CNV-d esinevad väga harva, siis on neid ka keerukam analüüsida ja leida nende mõju inimesele. Nende suuruse ja asukoha varieeruvus raskendab nende tuvastamist genoomis, mis teeb CNV-de uurimise raskeks. CNV koormuse skooride leidmine on üks viis probleemi lahendada. Skooride arvutamiseks ei ole aga loodud ühest viisi, vaid on võimalik kasutada erinevaid meetodeid.

Eelnevatest uuringutest on teada, et tõsisemad koopiaarvu variatsioonid võivad mõjutada inimese haridust (Männik et al., 2015) ja intelligentsust (IQ-d) (Huguet et al., 2018). Üheks näiteks võib tuua intelligentsi vähendava DiGeorge ehk 22q11.2 deletsioonisündroomi, mida põhjustab 22. kromosoomist 30-40 järjestikuse geeni deletsioon ehk kustutamine (Jensen et al., 2018). Samuti on kindlaks tehtud, et haridus mõjutab ka isiksust (Möttus et al., 2017). Seega on teada, et CNV mõjutab haridust ja haridus omakorda mõjutab isiksust. Isiksuse ja CNV vahel seosed pole seni leitud (Luciano et al., 2012). Varasemas uuringus kasutati isiksuse mõõtmiseks vaid viit põhitunnust ning ei vaadatud nende alamtahkusi. See võib olla ka põhjuseks, miks seoseid ei leitud.

Käesolevas töös kasutatakse analüüsimiseks TÜ Eesti Geenivaramu kahte andmestikku. Ühes andmestikus on informatsioon doonori üldtunnuste ja detailse isiksuse testi tulemuste kohta. Teine sisaldab geeniproovidest leitud CNV-sid, nende suurust ja muutunud alleelide arvu.

Töö põhieesmärk on leida, kas ja milline seos on CNV ja isiksuse vahel, võrreldes selleks proovidest leitud CNV-de sagedusi isiksuse testi tulemustega.

Autor soovib tänada juhendajat Uku Vainikut kasulike suunamiste ja pühendatud aja eest ning Margit Nõukast, Reedik Mägi ja Katrin Männikut, kes on analüüsiks andmeid eeltöödelnud ning aidanud tulemusi tõlgendada.

1. Metoodika

1.1 Bonferroni-Holm parandus

Töös testitakse seosete leidmiseks suuremal hulgal hüpoteesipaare. Kuna seosepaare on niivõrd palju, siis puututakse kokku mitmese testimise probleemiga (Goldman, n.d.).

Käesolevas töös kasutatakse olulisuse nivood $\alpha=0,05$ ehk 5% tõenäosusega tehakse I liiki viga.

$$\begin{aligned} P(\text{vähemalt ühe paari vahel on seos}) &= 1 - P(\text{mitte ühegi paari vahel pole seost}) \\ &= 1 - (1 - 0,05)^{35} \approx 0,834 \end{aligned}$$

Seega kontrollides 36 hüpoteesipaari, tehakse 83,4% tõenäosusega vähemalt ühel korral I liiki viga ehk saadakse valepositiivne tulemus.

Valepositiivsete tulemuste vähendamiseks kasutatakse töös Bonferroni-Holm parandust. Selleks pannakse esmalt kõikide hüpoteesipaaride p-väärtused kasvavasse järjekorda. Alustades väikseimast p-väärtusest, hakatakse seda võrdlema arvuga $r = \frac{\alpha}{m-k+1}$, kus α on olulisuse nivoo, k on vastava p-väärtuse järjekorra number ja m on järjekorra pikkus ehk hüpoteesipaaride koguarv. Võrdlusi tehakse järjest suuremate p-väärtustega, kuni leidub p-väärtus, mis on suurem kui talle vastav arv r . Kui p-väärtus on väiksem kui arv r , siis selle p-väärtuse puhul võetakse vastu alternatiivne hüpotees ja liigutakse edasi järgmise p-väärtuse kontrollimise juurde. Kui p-väärtus on suurem kui arv r , siis jäädakse selle ja iga järgneva p-väärtuse puhul nullhüpoteesi juurde ning võrdlemine lõpetatakse. (Stephanie, 2016)

Olgu olulisuse nivoo $\alpha=0,05$ ja $m=100$, siis juhul $k=1$ kontrollime, kas kehtib $\frac{0,05}{100-1+1} = \frac{0,05}{100} < p_1$. Kui võrratus ei kehti, siis lõpetame võrdlemised. Kui aga võrratus kehtib, siis võtame ette järjekorras teise p väärtuse ja kontrollime, kas kehtib $\frac{0,05}{100-2+1} = \frac{0,05}{99} < p_2$. Jätkame protsessi kuni leidub esimene p-väärtus, mille puhul jääme nullhüpoteesi juurde.

1.2. Mitme argumendiga regressioonimudel

Käesolev peatükk toetub Ene Kääriku loengukonspektile aines “Andmeanalüüs II” (Käärik, 2017).

Mitme argumendiga regressioonimudelit kasutatakse kui uuritavat tunnust Y soovitakse avaldada mitme argumenttunnuse X_1, X_2, \dots, X_k kaudu.

Bakalaureusetöös on kasutatakse mudelit, kus uuritav tunnus on pidev ja argumenttunnused on arvulised. Sellise mudeli jaoks sobib mitme argumendiga lineaarne regressioonimudel, mis avaldub kujul:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_{i1} + \dots + \beta_k x_{ik} + \varepsilon_i,$$

kus y_i on uuritav indiviid, β_0 on vabaliige, β_j on regressioonikordajad, x_{ij} on i -nda indiviidi j -nda argumenttunnuse väärtus ja ε_i on mudeli juhuslik viga ($i = 1, \dots, n$ ja $j = 1, \dots, k$, kus n on valimi maht ning k on mudelis olevate argumentide arv). Mudeli parameetrite arv on $p = k + 1$.

Antud mudeli parameetreid hinnatakse vähimruutude meetodil, mille idee seisneb vigade ruutude summade minimeerimises. Regressioonanalüüsi mudeli saab kirja panna maatrikskujul:

$$y = X\beta + \varepsilon,$$

kus $y = (y_1, \dots, y_n)^T$ on $n \times 1$ -mõõtmeline uuritava tunnuse vektor, X on $n \times p$ -mõõtmeline plaanimaatriks, $\beta = (\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_k)^T$ on $p \times 1$ -mõõtmeline tundmatute parameetrite vektor ja ε on $n \times 1$ -mõõtmeline juhuslike vigade vektor (n on valimi maht, k on mudelis olevate argumentide arv ja $p = k + 1$ on mudeli parameetrite arv).

Vigade ruutude summa saab nüüd kirja panna võrrandiga:

$$SSE(\beta) = (y - X\beta)^T (y - X\beta),$$

mida tuleb vähimruutude meetodi rakendamiseks minimeerida. Minimiseerimisülesande lahend avaldub kujul $b = (X^T X)^{-1} X^T y$, kui leidub pöördmaatriks $(X^T X)^{-1}$.

1.2.1. Regressioonikordajate olulisuse kontroll

Mudeli tegemisel on oluline teada, millised argumendid peaks mudelisse jätma ning millised mitte. Otsuse tegemiseks tuleb kontrollida regressioonikordajate $\beta_i (i = 1, \dots, k)$ olulisust. Selleks püstitatakse hüpoteesid:

$H_0: \beta_i = 0$; i -s argument ei ole oluline ning tuleb mudelist välja jätta;

$H_1: \beta_i \neq 0$; i -s argument on oluline.

Hüpoteese kontrollitakse t -statistikuga.

1.2.2. Regressioonanalüüsi mudel diskreetse argumendiga

Kui mudelisse on vaja kaasata ka diskreetseid tunnuseid, siis nende kaasamiseks kasutatakse indikaatortunnuseid.

Olgu diskreetne argumenttunnus x , millel on k taset. Indikaatortunnus u_i (kehtib $\sum u_i = 1$) määrab faktori taseme:

$$u_i = \begin{cases} 1, & \text{kui faktoril on tase } i; \\ 0, & \text{teistel juhtudel.} \end{cases}$$

Näiteks, kui argumenttunnusel on 3 taset ning meil on lihtsuse mõttes ühe argumendiga lineaarne regressioonimudel, siis saame mudelile kuju:

$$y = \mu + \alpha_1 u_1 + \alpha_2 u_2 + \alpha_3 u_3 + \varepsilon,$$

kus μ on vabaliige, $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$ on mudeli parameetrid, u_1, u_2 ja u_3 on indikaatortunnused ja ε on mudeli juhuslik viga. Arvestades, et $u_3 = 1 - u_1 - u_2$ saame valemi viia kujule:

$$y = \tau + \gamma_1 u_1 + \gamma_2 u_2 + \varepsilon,$$

kus $\tau = \mu + \alpha_3$, $\gamma_1 = \alpha_1 - \alpha_3$ ja $\gamma_2 = \alpha_2 - \alpha_3$. Sellisel juhul on kõik faktori mõjud arvestatud viimase taseme suhtes. Seega kui faktoril on k taset, siis on vaja $(k - 1)$ indikaatortunnust.

1.3. Teised meetodid

Lisaks ülalnimetatud meetoditele kasutatakse analüüsimiseks veel kolme testi. Isiksusetesti skooridel kontrollitakse normaaljaotust Shapiro Wilki testiga, mis põhineb dispersioonhinnangute suhtel. Testi nullhüpoteesiks on, et tunnuse jaotuseks on normaaljaotus. Isiksusetesti skooride keskmisi võrreldakse normandmestiku keskmistega. Selleks kasutatakse kahe valimi t-testi, mis neid keskväärtusi võrdleb. Testi nullhüpoteesiks on et keskväärtused on valimites võrdsed. Lisaks kasutati Spearmani korrelatsioonitesti, et vaadata kahe tunnuse vahel olevat seost.

2. Andmestik

Analüüsiks kasutatakse Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramust saadud andmeid, mis on kogutud aastatel 2002-2015. Isiksuse testi said doonorid sooritada aastatel 2008-2015. Töös kasutatakse kahte andmestikku: isiksuse andmestik ja CNV-de andmestik. Valimis on täiskasvanud inimesed, kes on geenidoonoriks tulnud vabatahtlikkuse alusel (Leitsalu et al., 2015).

Isiksuse andmestikus on informatsioon 3569 geenidoonori kohta ning selles kirjeldatakse doonorite isiksusi ja nende üldiseid tunnuseid. Iga isiku kohta on teada tema sugu, vanus, haridustase ja Suure Viisiku näitajad isiksuse kohta. Isiksusenäitajad pandi paika NEO PI-3 isiksusetestiga, mis mõõdab isiksust 240 küsimusega (McCrae et al., 2005). Käesolev valim on ainuke, kus on NEO PI-3 küsimustikku nii suures ulatuses Eestis rakendatud. Tinglikult võib võrdluseks võtta testi vanema versiooni NEO PI-R USA normid (Costa & McCrae, 1992a).

Andmestikus on iga Suure Viisiku omaduse kohta välja toodud tema kuue alamomaduse ehk tahu näitajad ja nende summa ehk põhiomaduse näitaja. Iga alamtahu kohta saab testi skoor olla kuni 32 punkti. Kuna põhitunnuste skoorid on alamtahkude summa, siis nende maksimumskoor on 192 ning keskmine piir on 96.

Algsesse CNV-de valimisse võeti 3604 isiksuseküsitluse kutse saanud doonorit. Nende geeniproovid genotüpiseeriti Illumina GSA kiibi abil ("Infinium Global Screening Array-24 Kit | Population-scale genetics," n.d.). Kuna osade geenidoonorite puhul ei vastanud genotüpiseerimise kvaliteedinäitajad CNV-de usaldusväärseks määramiseks vajalikule tasemele, siis jäi neist alles 3586. Järgmisena sooritati andmetel kvaliteedikontroll CNV-de määramise tarkvara PennCNV-ga, et eemaldada valimist halva kvaliteediga proovid. Piisava kvaliteediga proov saadi 2933 inimeselt. Nendest doonoritest 1223-l esinesid genoomis CNV-sid, mis on suuruselt vähemalt 250 kb ehk 250 000 nukleotiidi pikk DNA lõik. Alla selle suuruspiiri võib esineda tunduvalt rohkem valepositiivseid CNV signaale.

Analüüsi tegemiseks ühendati kaks andmestikku, et saaks võrrelda inimesi, kellel on leitud CNV-sid, nendega, kellel neid leitud ei ole. Saadud andmestikust eemaldati ka isikud, kelle kohta puudus vaste isiksuse andmestikus. Lõplikusse valimisse jäi 2923 geenidoonorit.

Valimis on iga isiku kohta teada, mitu CNV-d tal kokku on ja CNV-de arv erinevates suurusklassides vastavalt CNV tüübile (deletsioon või duplikatsioon), nt deletsioonid, mis on suuremad kui 1 Mb. Tähised kb ja Mb tähendavad vastavalt kiloaluspaare ja megaluspaare. Üks kiloaluspaar sisaldab endas 1000 nukleotiidi ja üks Mb sisaldab 1 000 000 nukleotiidi.

Aluspaariks nimetatakse kahte omavahel vesiniksidemetega seotud nukleotiidi, mis esinevad vastastikustes komplementaarsetes DNA-ahelates.

Suurusklasse on kokku viis:

- CNV-d, mis on suuremad kui 1Mb;
- CNV-d, mis on suuremad kui 500 kB;
- CNV-d, mis on suuremad kui 250 kb;
- CNV-d, mis jäävad vahemikku 250 kb kuni 500 kb;
- CNV-d, mis jäävad vahemikku 500 kb kuni 1 Mb.

Nii duplikatsioonide kui deletsioonide kohta tehti juurde ka kolm uut binaarset tunnust võttes aluseks suurusklasside tunnused:

- Leidub/ei leidu CNV-sid;
- Leidub/ei leidu üle 1 Mb CNV-sid;
- Leidub/ei leidu üle 500 kb CNV-sid.

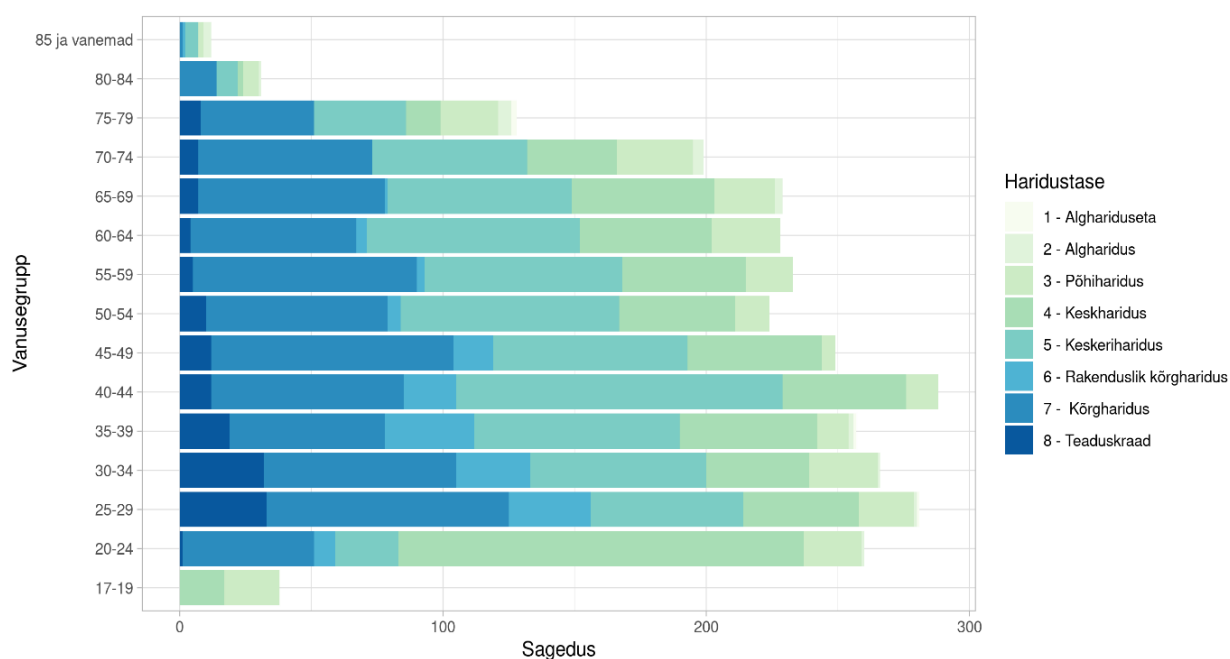
Seega kokku on CNV-de kohta 17 tunnust: koguarv, 10 pidevat tunnust suurusklassides ja 6 binaarset tunnust.

3. Analüüs

3.1. Kirjeldav analüüs

3.1.1. Doonorite üldandmed

Vaadeldavatest geenidoonoritest 40,81% ehk 1193 on mehed ja 59,19% ehk 1730 on naised. Joonisel 1 on välja toodud doonorite jaotus vanusegrupiti ning iga vanusegrupi kohta selle jaotus haridustasemeti (joonis 1). Keskmine vanus on 47,2, mediaan 46 ning mood 24 aastat. Geenidoonoritest noorim on 18-aastane ning vanim 91-aastane.



Joonis 1. Doonorite vanusegrupiline jaotus koos haridustasemega

Geenidoonorid pidid andma informatsiooni ka oma haridustaseme kohta. Antud andmestikus ei eristata kõrghariduse I (bakalaureus) ja II astet (magister). Mõlemad astmed on kokku pandud kõrghariduse nimetuse alla. Lähemalt uuritakse inimesi, kelle vanus jääb vahemikku 25 kuni 64, et saaks neid võrrelda neid Majanduskoostöö ja Arengu Organisatsiooni (OECD) andmetega. Inimesed, kes on vähemalt 25-aastased on tõenäolisemalt oma kõrghariduse esimese astme selleks vanuseks omandanud ja seega on analüüs täpsem kui nooremad välja jätta. Üle 25-aastaste andmeid kasutatakse hiljem ka hariduse ja CNV vaheliste seoste analüüsimisel (Möttus et al., 2017).

Valimis on 2026 doonorit vanuses 25 kuni 64 aastat. Enamus neist märkis oma hariduseks keskerihariduse (31,59%) või kõrghariduse (29,91%). Neile järgnevad keskharidus (18,46%), rakenduslik kõrgharidus (6,91%), põhiharidus (6,56%), teaduskraad (6,27%), algharidus (0,20%) ja alghariduseta (0,1% ehk 2 inimest).

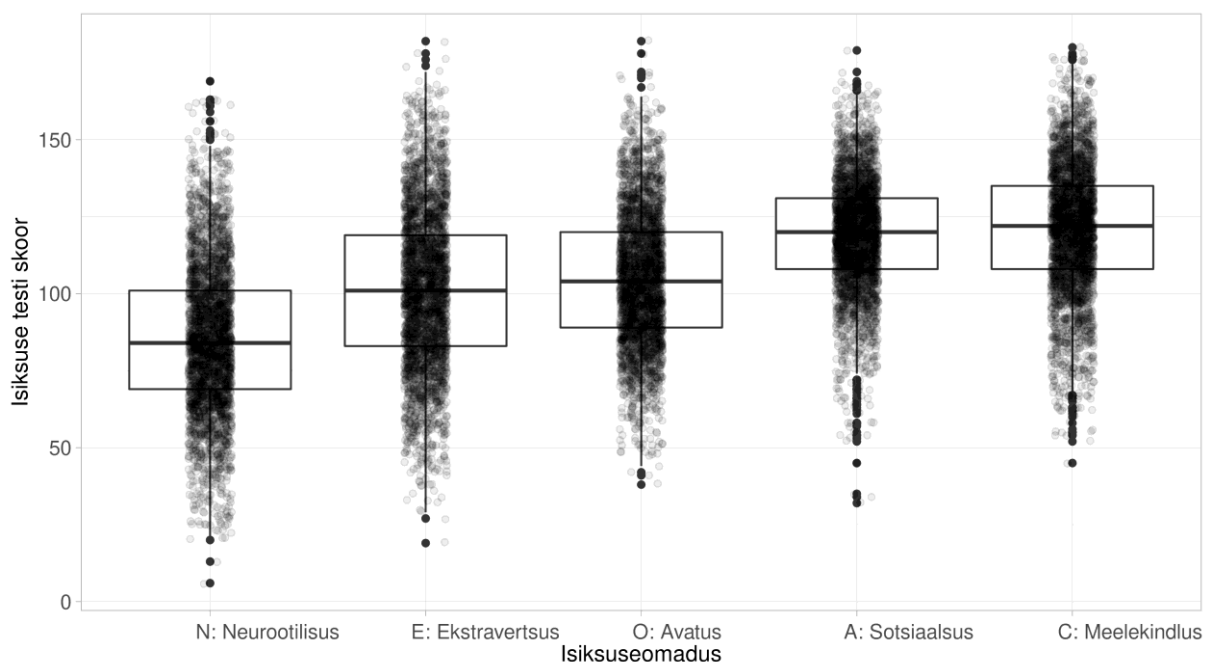
Majanduskoostöö ja Arengu Organisatsiooni (OECD) andmebaasis on välja toodud, et 25-64 aastaste eestlaste seas oli 2008-2015 aastatel keskmiselt 36,63% kõrgharidusega (ka teaduskraad), 52,40% keskharidusega ja 10,97% põhiharidusega või madalama haridusega inimesed ("Education attainment - Adult education level - OECD Data," n.d.). Antud valimis on need vastavalt 43,09%, 50,05% ja 6,86%. Seega on valimis 6,46% võrra ülesindatud kõrgharidusega inimesed ning 4,51% võrra on alaesindatud põhihariduse või madalama haridusega inimesed.

3.1.2. Isiksusenäitajad

Iga andmestikus olev doonor täitis suure viisku isiksuse testi, mille põhjal pandi tal paika skoorid isiksuse põhitunnustes ja alamtahkudes. Alamtahkudes oli maksimaalselt võimalik saada 32 punkti ja põhitunnuses, mis on selle alamtahkude summa, maksimaalselt 192.

Testi tulemuste kohta kontrolliti normaaljaotust iga põhitunnuse ja selle tahu kohta. Kõikide tunnuste puhul tuli Shapiro-Wilki testiga p-väärtus suurem kui olulisusnivoo $\alpha = 0.05$. Seega olid kõik tunnused normaaljaotusega. Saadud testide tulemusi saab võrrelda NEO PI-R USA normidega (Costa and McCrae, 1992b). Võrdluseks võetud normandmestiku valimimahuks oli $n = 1000$ (Barto et al., 2011). Valimeid võrreldi t-testiga. Tulemuseks saadi, et kõikide põhitunnuste keskmised olid normandmestiku keskmistest erinevad. Alamtahkude keskmistest olid kõik, välja arvatud tahud avatus fantaasiale (O1), avatus tunnetele (O3) ja tagasihoidlikkus (A5), erinevad võrreldes normandmestiku keskmist.

Joonisel 2 on näha isiksuse viie põhitunnuse kohta isiksuse testi tulemuste jaotuste hajuvus (joonis 2). Antud valimis on geenidoonoritel kõrgeimad testi skoorid sotsiaalsuse ja meelekindluse tunnustes. Doonorid on pigem avatumad ka uutele kogemustele, mis on ootuspärane tulemus. Valimis on rohkem ekstraverte kui introverte, kuid mitte väga ülekaalukalt. Lai ulatus on ka neurootilisuse skooridel, kuid pigem on doonorid vähe neurootilised ehk emotsionaalselt stabiilsed.



Joonis 2. Isiksuse testi skooride jaotuse hajuvus viies isiksuse põhitunnuses

Täpsemat infot iga isiksuse põhiomaduse kohta saab tema alamtahkudest. Lisades 1-5 on iga põhiomaduse alamtahkude kohta koostatud karpdiagrammid, mis kirjeldavad nende isiksuse testi skooride jaotuse hajuvust. Nendelt joonistelt on näha, et iga põhifaktori sees on ka alamtahkude jaotused omavahel veidi erinevad. (Lisa 1 – lisa 5)

3.1.3. CNV-de andmed

Üle 250 kb suuruseid CNV-sid leiti 1214 (41,5%) doonoril ning 1709 (58,5%) isikul ei tuvastatud mitte ühtegi CNV-d. Alleelide deletsioone oli 409 inimesel ja duplikatsioone 917 inimesel, neist 112 inimesel oli mõlemat tüüpi CNV-sid.

CNV-de koguarv jäi doonoritel vahemikku 0 kuni 16. Nii deletsioonide kui duplikatsioonide puhul on rohkemate CNV-de esinemine haruldasem ning enim oli inimesi, kellel ei leitud ühtegi CNV-d. Kui CNV-sid leiti 1214 inimesel, siis nendest 809 inimesel leidis vaid üks CNV, 232 inimesel leidis kaks CNV-d ja 94 inimesel leidis kolm CNV-d. Üle kolme CNV leiti 79 inimesel. Lisas 6 on toodud CNV-de koguarvu, duplikatsioonide arvu ja deletsioonide arvu jaotustabel (lisa 6).

Tabelist 1 on näha, et CNV-sid kõikide inimeste peale kokku leiti 2004, millest duplikatsioone oli 1392 ehk 69,46% ja deletsioone 612 ehk 30,54%. Ligikaudu kaks kolmandikku (65,97%) CNV-dest on suurusklassis 250-500 kb, 19,06% on suurusklassis 500 kb kuni 1 Mb ja suuremaid kui 1 Mb on 300. Seega suuremad CNV-d on harvemini esinevad, seda ka vaadates eraldi nii deletsioone kui ka duplikatsioone. (Tabel 1)

Tabel 1. CNV-de jaotus erinevates suurusklassides

	250-500 kb	500 kb - 1 Mb	üle 1 Mb	kokku
Deletsioone	453	106	53	612
Duplikatsioone	869	276	247	1392
CNV-sid kokku	1322	382	300	2004

3.2. CNV ja hariduse vaheline seos

CNV skooride kontrollimiseks tehakse analüüs nende võrdlemiseks haridusega, kuna CNV ja hariduse vahel on seos varasemalt tõestatud. Parema võrdlusmomendi saamiseks ja interpreteerimiseks kodeeriti haridustasemed ümber aastateks (tabel 2). Kodeerimine tehti vastavalt rahvusvahelise ühtse hariduse liigituse (ISCED) klassifikatsiooniskeemile (Rietveld et al., n.d.). Lisaks filtreeriti välja inimesed, kes on alla 25-aastased, kuna enamusel neist on tõenäoliselt veel haridustee pooleli ning see segaks edaspidiseid analüüse. Valimisse jäi alles 2625 geenidoonorit.

Tabel 2. Haridustasemete kodeerimine õpitud aastateks

Haridustase	ISCED kood	Teisendus aastateks
Alghariduseta	0	1
Algharidus	1	7
Põhiharidus	2	10
Keskharidus	3	13
Keskeriharidus	3	13
Rakenduslik kõrgharidus	4	15
Kõrgharidus	5	19
Teaduskraad	6	22

CNV ja hariduse vahelise seose kontrollimiseks kasutati regressioonanalüüsi mudelit diskreetsete argumentidega, kus haridus on uuritav tunnus ja argumenttunnused on sugu, vanus ja tunnus CNV kohta. Esmalt prooviti mudelisse panna CNV-de koguarv. CNV tunnuse regressioonikordaja p-väärtuseks saadi 0,61, seega pole see tunnus mudelis oluline ning peaks selle välja jätma.

Seost kontrollitakse ka vaadates ainult suuri CNV-sid, mille mõju võib inimesele olla tugevam. Selleks lisatakse mudelisse CNV-tunnuseks duplikatsioonid, mis on suuremad kui 1 Mb, ja deletsioonid, mis on suuremad kui 1 Mb. Kuigi p-väärtused tulid nüüd väiksemad, vastavalt 0,14 ja 0,29, siis ei ole need piisavalt väikesed, et saaks öelda, et nende regressioonikordajad oleksid mudelis olulised. Teiste argumenttunnuste (sugu ja vanus) regressioonikordajad olid mudelis olulised.

Tulemused näitavad, et CNV-de sageduste esinemise järgi ei saa ennustada haridustaset. Kuna nende kahe CNV-de ja hariduse vahel antud andmestikus seos puudub, siis ei pruugi leiduda seoseid ka isiksuse ja CNV tunnuste vahel.

3.3. CNV ja isiksuse vaheline seos

Töö põhieesmärgiks on uurida, kas CNV ja isiksuse vahel leidub seos. Selleks peab kontrollima seost CNV tunnuse ja 35 isiksusetunnuse (5 põhiomadust ja 30 alamomadust) vahel. Kuna seosepaare on niivõrd palju, siis puututakse kokku mitmese testimise probleemiga, mille korrigeerimiseks kasutatakse Bonferroni-Holm parandust (Goldman, n.d.).

Seoste kontrollimiseks kasutatakse diskreetsete tunnustega regressioonanalüüsi mudelit, kuna mudelisse kaasatakse nii diskreetseid kui ka pidevaid tunnuseid. Igasse mudelisse kaasatakse sugu, vanus ning kolmanda argumenttunnusena CNV tunnus. Uuritakse 35 erinevat isiksusetunnust erinevate CNV tunnustega.

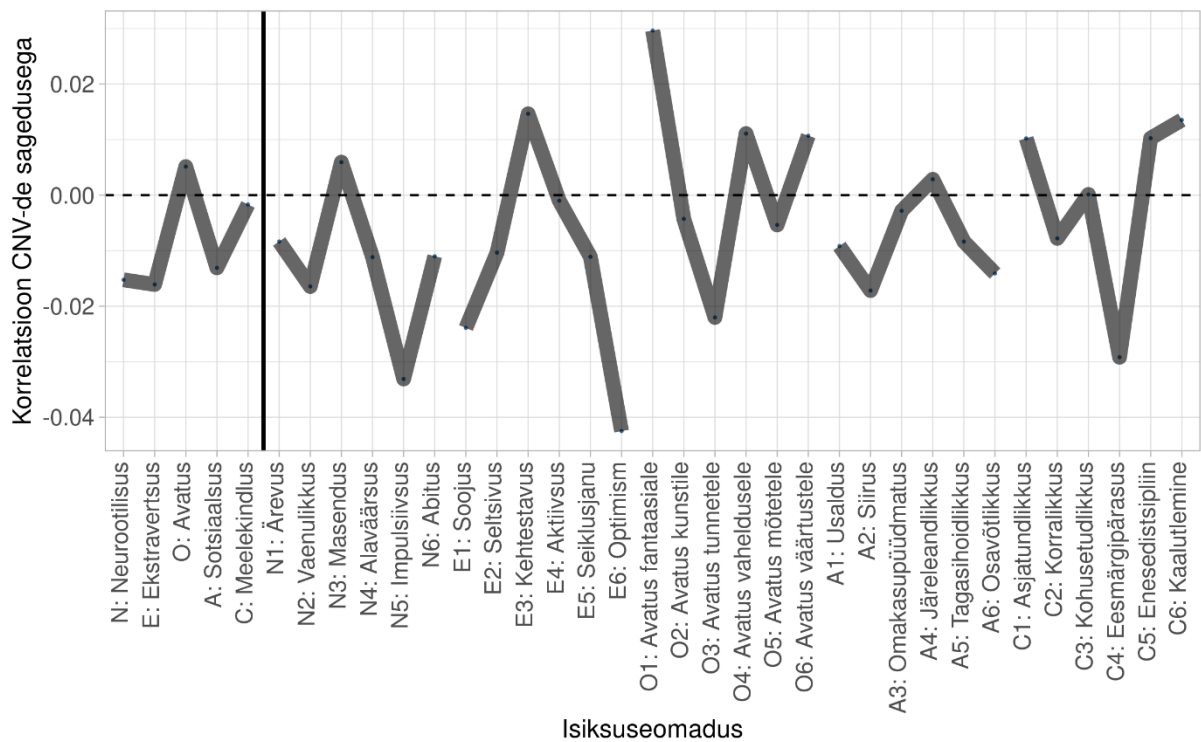
Isiksust ennustavates mudelites leitakse CNV-de tunnuste regressioonikordajate p-väärtused, millele rakendatakse Bonferroni-Holm parandust, et vähendada mitmese testimise probleemi. Olulisusnivooks on võetud $\alpha = 0,05$. Kui mudelis saadud CNV tunnuse p-väärtus on peale Bonferroni-Holm paranduse rakendamist väiksem kui olulisusnivoo, siis on ka vastav regressioonikordaja mudelis oluline. Sellisel juhul on vastava isiksusetunnuse ja CNV tunnuse vahel seos.

Esmalt uuritakse 35 isiksusemudelit, kus isiksust ennustasid CNV-de koguarv, sugu ja vanus. CNV-de koguarvu regressioonikordajate p-väärtustele rakendati Bonferroni-Holm parandust. Peale paranduse rakendamist olid kõikides mudelites CNV-de koguarvu p-väärtused suuremad kui 0,05. Väikseim parandatud p-väärtus oli 0,44. Seega CNV-de koguarv ei ole seotud isiksusega.

Järgmisena vaadatakse, kas tulemus muutub, kui CNV-de koguarvu asemel vaadata vaid üle ühe Mb suuruseid CNV-sid ja uurida eraldi deletsioone ja duplikatsioone. Eeldatakse, et suurematel CNV-del võiks olla suurem mõju inimesele ja isiksusele. Ka nendel mudelitel olid kõik CNV-de parandatud p-väärtused üle 0,05 ehk olulisusnivoo. Seega üle 1 Mb suuruste CNV-de ja isiksuse vahel ei ole seost. Kuna suured CNV-d isiksust ei mõjuta, siis tõenäoliselt ei mõjuta ka väikeseid, siiski kontrollitakse ka need üle.

Ülejäänud mudeleid uurides selgus, et mitte üheski 490 mudelist ei olnud CNV parandatud p-väärtus suurem kui olulisusnivoo ning kõikide mudelite juures jäadi otsusele, et CNV tunnus ei ole mudelis oluline ning seega ei mõjuta CNV-d. Seega ei mõjuta ükski valimis leiduv CNV tunnus isiksuseomadusi.

Paremaks tulemuste võrdlemiseks teise isiksuseprofiilidega (Vainik et al., 2018) vaadati CNV ja isiksuse vahelisi korrelatsioone. Joonisel 3 on näha isiksuse põhiomaduste ning nende alamtahkude korrelatsioone CNV-de koguarvuga inimese kohta (joonis 3). Kõikide korrelatsioonide absoluutväärtused tulid väiksemad kui 0,05, seega on seosed põhiliselt olematudväga nõrgad. Kokkuvõtvalt võib öelda, et ükski CNV sageduste tunnus ega binaarne (leidub/ei leidu) tunnus ei mõjuta antud andmestikus ühtegi isiksuseomadust.



Joonis 3. Isiksuseomaduste ja CNV-de koguarvu sageduste vaheline korrelatsioon

Kokkuvõte

Bakalaureusetöö põhieesmärk oli Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu andmete põhjal uurida, kas ja milline seos on koopiaarvu variatsioonide ja Suure Viisiku isiksusetunnuste vahel. Seoste kontrollimiseks kasutati diskreetsete argumentidega regressioonanalüüsi mudelit ning vaadati korrelatsioone. Mitmese testi probleemi lahendamiseks rakendati p-väärtustele Bonferroni-Holm parandust.

Esmalt kontrolliti andmestikus olevate CNV-de tugevust põhinedes varasemale uuringule, kus on leitud seos hariduse ja CNV vahel. Selleks tehti haridust ennustavad mudelid, kuhu kaasati erinevaid CNV tunnuseid. Tulemustest aga selgus, et üheski koostatud mudelis ei olnud CNV tunnuse regressioonikordaja oluline ning seega tuli tunnus mudelist välja jätta. Seost hariduse ja CNV vahel ei leitud. See võib viidata sellele, et antud andmestikus ei ole CNV-d piisavalt tugevad, et haridust ning seega ka isiksust mõjutada.

Töö põhieesmärgi uurimiseks prooviti teha mudeleid isiksusetunnuste ennustamiseks CNV-de kaudu. Selleks tehti iga CNV tunnuse kohta 35 mudelit – mudel iga isiksusetunnuse kohta. Ka nendes mudelites ei tulnud ükski CNV tunnuse regressioonikordaja oluline. Seega ei mõjuta ükski valimis leiduv CNV tunnus isiksuseomadusi.

CNV-de ja isiksusetunnuste vaheliste seoste puudumine võib olla tingitud puudulikust andmestikust. Antud andmestikus oli teada vaid CNV-de arv erinevates suurusklassides, kuid puudus täpsem info CNV-de kohta. Näiteks võiks CNV-de kohta olemas olla selle teadaolev esinemissagedus, mis näitaks kui harva seda inimestel esineb. Harvad CNV-d on tõenäolisemalt tugevama efektiga ning võivad ka isiksust mõjutada. Esinemissageduse järgi võib selguda, et andmestikus olevad CNV-d on inimeste seas pigem sagedased ning seetõttu pole ka tulemusi.

Algses CNV-de andmestikus oli 3604 inimest, kellest peale kvaliteedikontrolle ja filtreerimisi jäi alles 2923 doonorit. Filtreerimiste käigus eemaldati proovid, millel oli inimese kohta tuvastatud üle 100 CNV. Samuti filtreeriti välja alla 250 kb suurused CNV-d. Võib olla olid need filtreerimised liiga karmid.

Valimisse olid kaasatud täiskasvanud inimesed, kes on geenidoonoriks tulnud vabatahtlikkuse alusel. Seega oli doonoritel selle teema vastu isiklik huvi ning see võib andmestikku kallutada. Järgnevates uuringutes võiks valim olla juhuslikum, et välist müra vähendada.

Võrreldes valimi hariduse jaotust OECD kodulehel välja toodud eestlaste hariduse jaotusega, on näha, et antud valimis on põhiharidusega ja sellest madalama haridusega inimesed alaesindatud ning kõrgharidusega inimesed ülesindatud. Kõrgema haridusega inimestel on aga väiksem tõenäosus, et neil on väga tugevad koopiaarvu variatsioonide kahjustused, mis isiksust mõjutaksid.

Kuigi antud andmete põhjal ei leitud koopiaarvu variatsioonide ja isiksusetunnuste vahel seoseid, siis tasuks seda teemat edasi uurida. Selleks aga võiks kasutada andmestikku, kus on täiendavat informatsiooni CNV-de kohta.

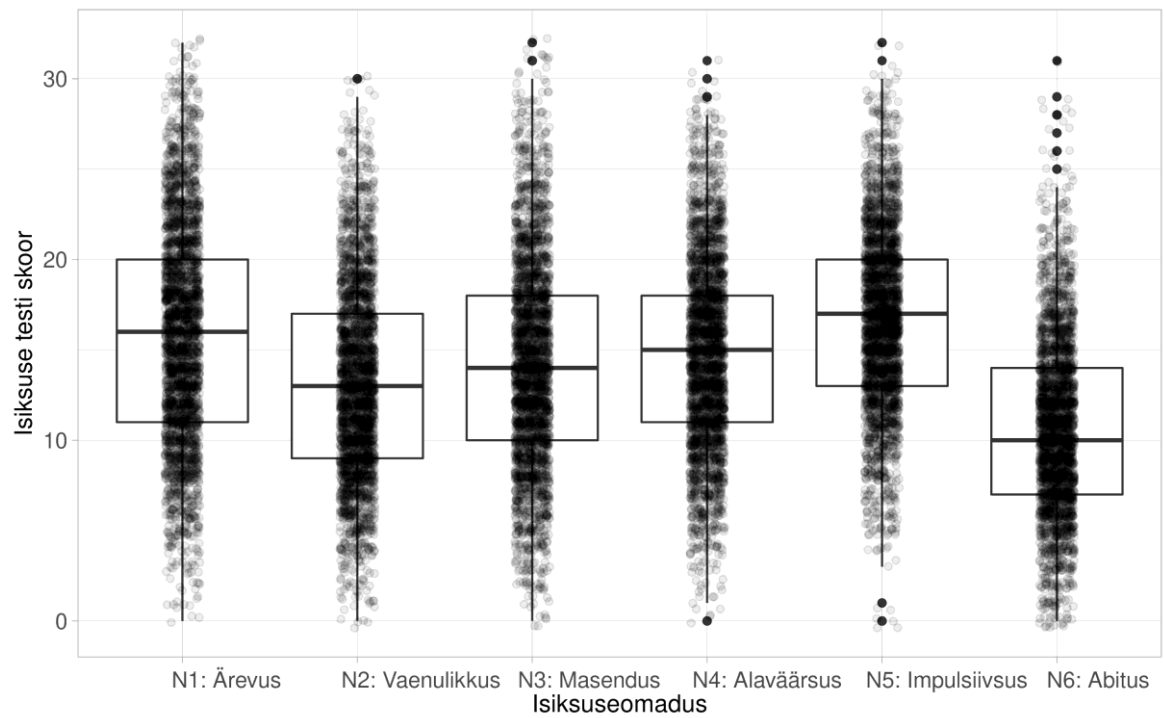
Viited

- 23andMe Research Team, Nagel, M., Jansen, P.R., Stringer, S., Watanabe, K., de Leeuw, C.A., Bryois, J., Savage, J.E., Hammerschlag, A.R., Skene, N.G., Muñoz-Manchado, A.B., White, T., Tiemeier, H., Linnarsson, S., Hjerling-Leffler, J., Polderman, T.J.C., Sullivan, P.F., van der Sluis, S., Posthuma, D., 2018. Meta-analysis of genome-wide association studies for neuroticism in 449,484 individuals identifies novel genetic loci and pathways. *Nat Genet* 50, 920–927. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0151-7>
- Barto, E., Chappelle, W., King, R., Ree, M., Teachout, M., 2011. The NEO PI-R as a Premorbid Baseline Measure 33.
- Costa, P.T., McCrae, R.R., 1992a. Normal personality assessment in clinical practice: The NEO Personality Inventory. *Psychological Assessment* 4, 5–13. <https://doi.org/10.1037/1040-3590.4.1.5>
- Costa, P.T., McCrae, R.R., 1992b. Revised NEO Personality Inventory (NEO-PI-R) and NEO Five-Factor Inventory (NEOFFI). Lutz, FL Psychological Assessment Resources (PAR).
- Education attainment - Adult education level - OECD Data [WWW Document], n.d. . theOECD. URL <http://data.oecd.org/eduatt/adult-education-level.htm> (accessed 5.17.20).
- Goldman, M., n.d. 1 Why is multiple testing a problem? 5.
- Huguet, G., Schramm, C., Douard, E., Jiang, L., Labbe, A., Tihiy, F., Mathonnet, G., Nizard, S., Lemyre, E., Mathieu, A., Poline, J.-B., Loth, E., Toro, R., Schumann, G., Conrod, P., Pausova, Z., Greenwood, C., Paus, T., Bourgeron, T., Jacquemont, S., 2018. Measuring and Estimating the Effect Sizes of Copy Number Variants on General Intelligence in Community-Based Samples. *JAMA Psychiatry* 75, 447–457. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2018.0039>
- Infinium Global Screening Array-24 Kit | Population-scale genetics [WWW Document], n.d. URL <https://www.illumina.com/products/by-type/microarray-kits/infinium-global-screening.html?langsel=/us/> (accessed 5.28.20).
- Jensen, M., Kooy, R.F., Simon, T.J., Reyniers, E., Girirajan, S., Tassone, F., 2018. A higher rare CNV burden in the genetic background potentially contributes to intellectual disability phenotypes in 22q11.2 deletion syndrome. *European Journal of Medical Genetics* 61, 209–212. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2017.11.016>
- John, O., Naumann, L., Soto, C., 2008. Paradigm shift to the integrative big five trait taxonomy: History, measurement, and conceptual issues, in: *Handbook of Personality: Theory and Research*, 3 Edn. pp. 114–158.
- Käärik, E., 2017. Loengukonspekt Andmeanalüüs II.
- Kirov, G., Rees, E., Walters, J., 2015. What a psychiatrist needs to know about copy number variants. *BJPsych Advances* 21, 157–163. <https://doi.org/10.1192/apt.bp.113.012039>
- Leitsalu, L., Haller, T., Esko, T., Tammesoo, M.-L., Alavere, H., Snieder, H., Perola, M., Ng, P.C., Mägi, R., Milani, L., Fischer, K., Metspalu, A., 2015. Cohort Profile: Estonian Biobank of the Estonian Genome Center, University of Tartu. *Int J Epidemiol* 44, 1137–1147. <https://doi.org/10.1093/ije/dyt268>
- Luciano, M., MacLeod, A.K., Payton, A., Davies, G., Ke, X., Tenesa, A., Ollier, W., Starr, J.M., Horan, M.A., Pendleton, N., Thomson, P.A., Porteous, D.J., Deary, I.J., 2012. Effects of gene copy number variants on personality and mood in ageing cohorts. *Personality and Individual Differences, Special Issue on Behavioral genetic contributions to research on individual differences* 53, 393–397. <https://doi.org/10.1016/j.paid.2011.12.019>

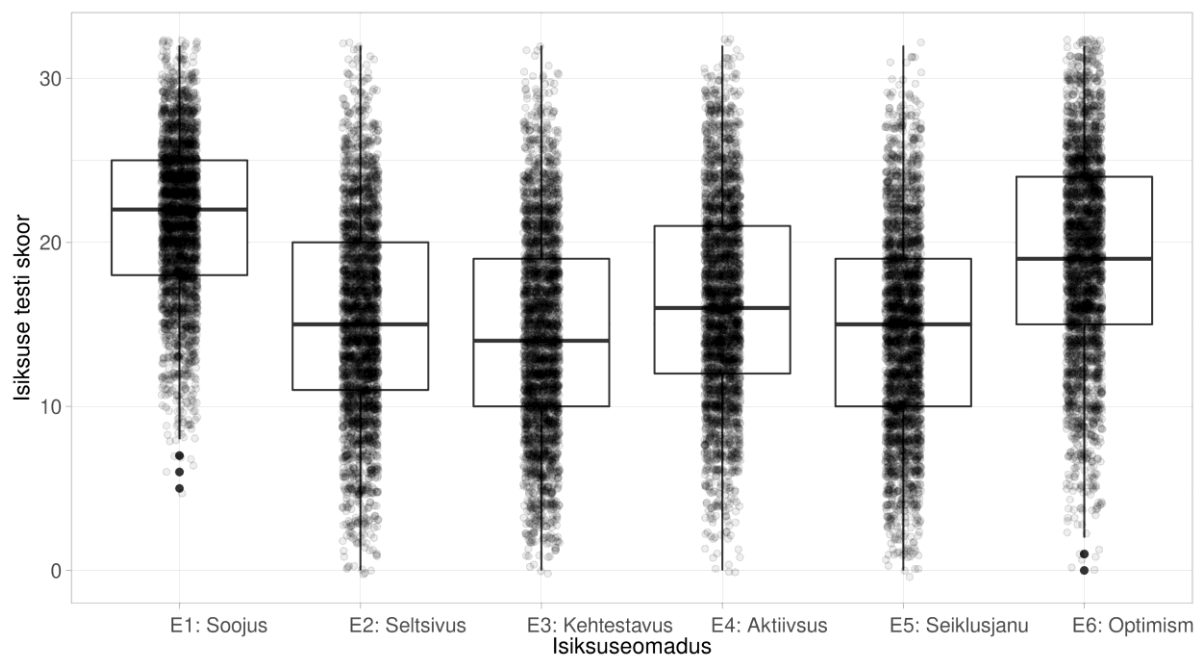
- Männik, K., Mägi, R., Macé, A., Cole, B., Guyatt, A.L., Shihab, H.A., Maillard, A.M., Alavere, H., Kolk, A., Reigo, A., Mihailov, E., Leitsalu, L., Ferreira, A.-M., Nõukas, M., Teumer, A., Salvi, E., Cusi, D., McGue, M., Iacono, W.G., Gaunt, T.R., Beckmann, J.S., Jacquemont, S., Kutalik, Z., Pankratz, N., Timpson, N., Metspalu, A., Reymond, A., 2015. Copy Number Variations and Cognitive Phenotypes in Unselected Populations. *JAMA* 313, 2044–2054. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.4845>
- McCrae, R.R., Costa, Jr., P.T., Martin, T.A., 2005. The NEO-PI-3: A More Readable Revised NEO Personality Inventory. *Journal of Personality Assessment* 84, 261–270. https://doi.org/10.1207/s15327752jpa8403_05
- Moor, M.H.M. de, Berg, S.M. van den, Verweij, K.J.H., Krueger, R.F., Luciano, M., Vasquez, A.A., Matteson, L.K., Derringer, J., Esko, T., Amin, N., Gordon, S.D., Hansell, N.K., Hart, A.B., Seppälä, I., Huffman, J.E., Konte, B., Lahti, J., Lee, M., Miller, M., Nutile, T., Tanaka, T., Teumer, A., Viktorin, A., Wedenoja, J., Abecasis, G.R., Adkins, D.E., Agrawal, A., Allik, J., Appel, K., Bigdeli, T.B., Busonero, F., Campbell, H., Costa, P.T., Smith, G.D., Davies, G., Wit, H. de, Ding, J., Engelhardt, B.E., Eriksson, J.G., Fedko, I.O., Ferrucci, L., Franke, B., Giegling, I., Grucza, R., Hartmann, A.M., Heath, A.C., Heinonen, K., Henders, A.K., Homuth, G., Hottenga, J.-J., Iacono, W.G., Janzing, J., Jokela, M., Karlsson, R., Kemp, J.P., Kirkpatrick, M.G., Latvala, A., Lehtimäki, T., Liewald, D.C., Madden, P.A.F., Magri, C., Magnusson, P.K.E., Marten, J., Maschio, A., Medland, S.E., Mihailov, E., Milaneschi, Y., Montgomery, G.W., Nauck, M., Ouwers, K.G., Palotie, A., Pettersson, E., Polasek, O., Qian, Y., Pulkki-Råback, L., Raitakari, O.T., Realo, A., Rose, R.J., Ruggiero, D., Schmidt, C.O., Slutske, W.S., Sorice, R., Starr, J.M., Pourcain, B.S., Sutun, A.R., Timpson, N.J., Trochet, H., Vermeulen, S., Vuoksima, E., Widen, E., Wouda, J., Wright, M.J., Zgaga, L., Porteous, D., Minelli, A., Palmer, A.A., Rujescu, D., Ciullo, M., Hayward, C., Rudan, I., Metspalu, A., Kaprio, J., Deary, I.J., Rääkkönen, K., Wilson, J.F., Keltikangas-Järvinen, L., Bierut, L.J., Hetttema, J.M., Grabe, H.J., Duijn, C.M. van, Evans, D.M., Schlessinger, D., Pedersen, N.L., Terracciano, A., McGue, M., Penninx, B.W.J.H., Martin, N.G., Boomsma, D.I., 2015. Meta-analysis of Genome-wide Association Studies for Neuroticism, and the Polygenic Association With Major Depressive Disorder. *JAMA Psychiatry* 72, 642–650. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2015.0554>
- Möttus, R., Realo, A., Vainik, U., Allik, J., Esko, T., 2017. Educational Attainment and Personality Are Genetically Intertwined. *Psychol Sci* 28, 1631–1639. <https://doi.org/10.1177/0956797617719083>
- Ozer, D.J., Benet-Martínez, V., 2006. Personality and the prediction of consequential outcomes. *Annu Rev Psychol* 57, 401–421. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.57.102904.190127>
- Rietveld, C.A., Conley, D., Eriksson, N., Esko, T., Medland, S.E., Vinkhuyzen, A.A.E., Yang, J., Boardman, J.D., Chabris, C., Dawes, C.T., Domingue, B.W., Hinds, D.A., Johannesson, M., Kiefer, A.K., Laibson, D., Magnusson, P.K.E., Mountain, J.L., Oskarsson, S., Rostapshova, O., Teumer, A., Tung, J.Y., Visscher, P.M., Benjamin, D.J., Cesarini, D., Koellinger, P.D., n.d. Replicability and Robustness of GWAS for Behavioral Traits 8.
- Stephanie, 2016. Holm-Bonferroni Method: Step by Step [WWW Document]. Statistics How To. URL <https://www.statisticshowto.datasciencecentral.com/holm-bonferroni-method/> (accessed 3.30.20).
- Vainik, U., Misic, B., Zeighami, Y., Michaud, A., Möttus, R., Dagher, A., 2018. Obesity has limited behavioural overlap with addiction and psychiatric phenotypes. <https://doi.org/10.31234/osf.io/jt2b7>

Lisad

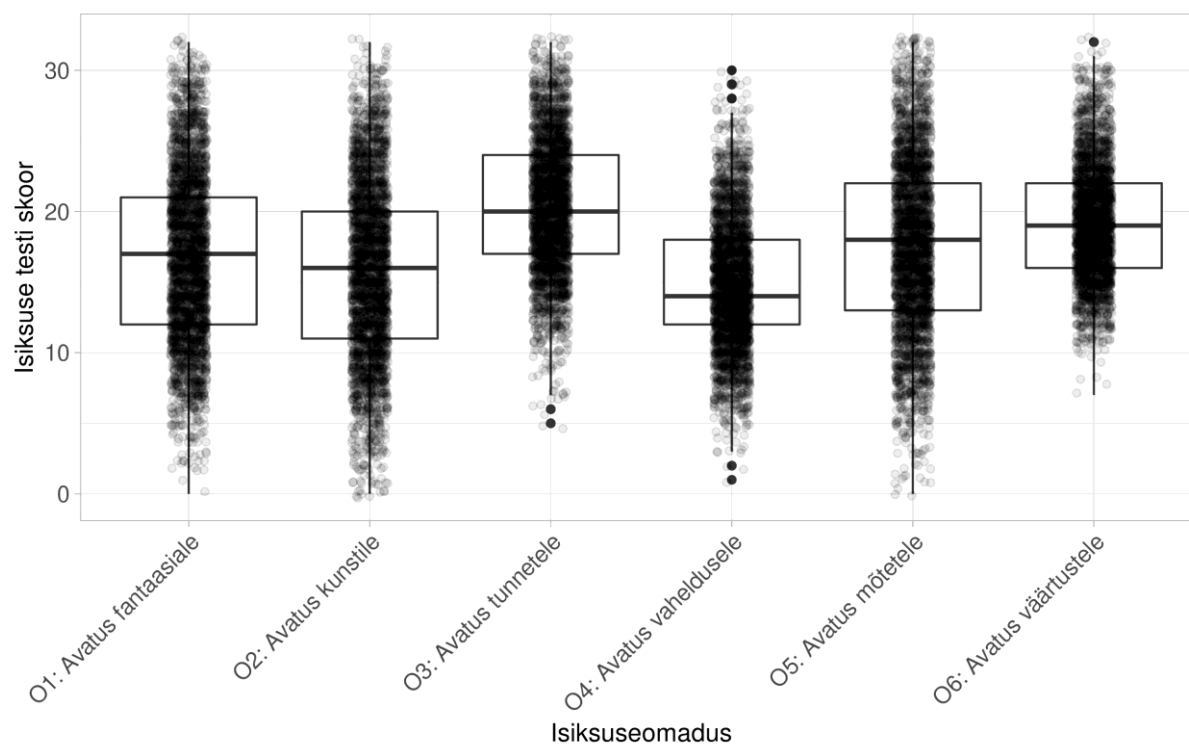
Lisa 1 - Isiksuse testi skooride jaotuse hajuvus neurootilisuse alamtahkudes



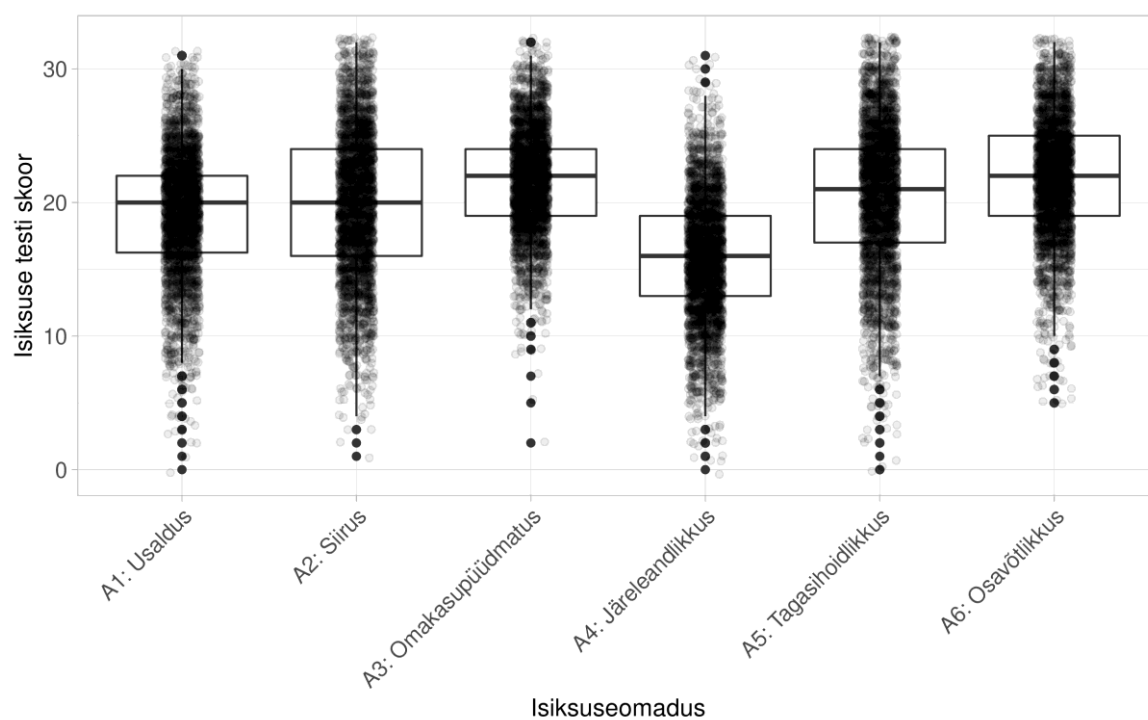
Lisa 2 - Isiksuse testi skooride jaotuse hajuvus ekstravertsuse alamtahkudes



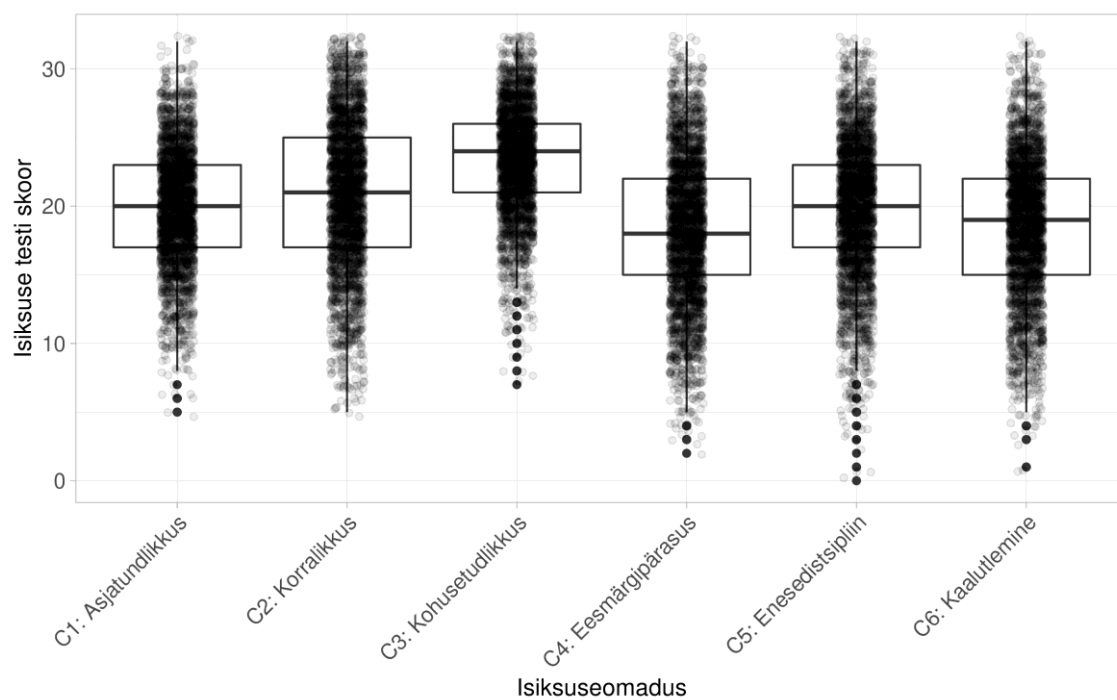
Lisa 3 - Isiksuse testi skooride jaotuse hajuvusavatuse alamtahkudes



Lisa 4 - Isiksuse testi skooride jaotuse hajuvus sotsiaalsuse alamtahkudes



Lisa 5 - Isiksuse testi skooride jaotuse hajuvus meelekindluse alamtahkudes



Lisa 6 - Inimeste jaotus vastavalt inimese kohta leitud üle 250 kb suuruste CNV-de kohta sagedustele

		Kõik CNV-d	Deletsioonid	Duplikatsioonid
CNV-de arv inimese kohta	0	1709	2514	2006
	1	809	314	664
	2	232	55	157
	3	94	16	54
	4	32	9	13
	5	13	3	11
	6	15	5	6
	7	6	1	6
	8	5	3	1
	9	5	3	2
	10	1	0	1
	11	1	0	1
	12	0	0	0
	13	0	0	0
	14	0	0	0
	15	0	0	0
	16	1	0	1

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Annika Altoja,

annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „Koopiaarvu variatsioonide mõju inimese isiksusele“, mille juhendaja on Uku Vainik, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 3.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Annika Altoja

28.05.2020